

(19) French Republic  
National Institute of Industrial Property  
Paris

(11) Publication No.: 2 693 108  
(use only to order copies)

(21) National registration number: 92 06954

(51) Int. CL.5: A 61 L 17/00

(12) PATENT APPLICATION A1

---

(22) Filing date: 6.10.92

(30) Priority:

(43) Date application laid open: 1.7.94 Bulletin 94/01.

(56) List of documents cited in the preliminary search report: not yet established as of the date of publication of the application.

(60) References to other related French documents:

(71) Applicant(s): HEXABIO (S.A.) – FR.

(72) Inventor(s): Poustis Joel.

(73) Proprietor(s):

(74) Attorney: Muller Rene

---

(54) Resorbable surgical material, especially resorbable suture thread.

(57) The invention concerns a resorbable surgical material, especially a suture thread, formed from at least one thread of regenerated cellulose on which are fixed enzymes capable of breaking it down under the conditions in the human or animal body.

## RESORBABLE SURGICAL MATERIAL, ESPECIALLY RESORBABLE SUTURE THREAD

The present invention concerns a resorbable surgical material, especially a new resorbable suture thread.

Resorbable suture threads are currently used in medicine and in surgery, especially when the removal of the threads is not possible without opening the wound and the persistence of nonresorbable threads might entail difficulties.

Resorbable threads should have a good mechanical strength in the dry state and the wet state, good elasticity, and a number of other properties, in particular, similarity for the period of biological decomposition and the period of cicatrization, and a lack of allergic and inflammatory reactions during the suturing and in the period of complete dissolution of the suture material. The choice of thread for the surgeon is thus a function of the suture being produced and the site of the implantation.

At present, catgut is still being used as suture thread. This is made of collagen fibers obtained by twisting of submucosal and muscle strips from animals. The period of resorption of catgut is rather long, depending on the chemical treatment to which the thread is subjected. Thus, this period may range from 20 days to 60 days for a treatment using a tanning process with chromium salts, the catgut resorption taking place by proteolysis in the human body. One of the drawbacks of this suture thread is that it may exert an allergenic effect, bringing about an inflammatory reaction in biological tissues, which leads to the formation of a thick scar.

Today, it is preferable to use synthetic threads, especially braided threads based on polyglycolic acid and/or polylactic acid, these two components being physiological metabolites and their threads being generally well tolerated by the body. The breakdown of these threads occurs by the mechanism of hydrolysis by physiological fluids. From the mechanical standpoint, these threads preserve around 60% of their initial strength after 15 days of implantation. The total loss of strength occurs after around one month of implantation.

In order to speed up the process of resorption, the threads based on glycolic and lactic polymers or copolymers can be treated, in particular, with an ionizing radiation, which brings about a consolidation of their structure.

Also familiar is the resorbable monofil or monofilament of synthesis, based on polyester polydioxanone, whose very smooth surface allows a good fluidity through the tissues. However, its rigidity means they are less easily handled than braided threads. The resorption by hydrolysis is slower than for braided threads based on polylactic and polygluconic acid.

Other resorbable synthetic monofilaments are also known, especially those based on a modified polygluconic acid or polygluconate.

These synthetic threads, which have technical and mechanical qualities superior to those of catgut, such as strength at rupture, flexibility, knot strength, and regularity, may nevertheless cause inflammatory reactions. What is more, their decomposition products can be hard for the cells, the blood and the kidneys to eliminate.

Another drawback of these synthetic threads is that each family of thread types generally has its own resorption period, that is, one has to use a thread of different behavior and handling for every different operation.

The invention does away with the mentioned drawbacks. It proposes a new resorbable material, especially one in the form of at least one resorbable thread based on regenerated cellulose.

The resorbable material of the invention, especially in thread form, is a material based on regenerated cellulose, obtained by the rayon process or any other synthesis process for regenerated cellulose, on which material are fixed enzymes able to decompose it under given ambient conditions and duration, in particular, under the conditions in the human or animal body.

According to one aspect of the invention, the thread based on regenerated cellulose is a thread on which cellulases are fixed: the endoglucanases (Cx (CMC) activity), the exoglucanases (C1 (AVICEL) activity), the  $\beta$ -glucosidases. These enzymes are able to hydrolyse the cellulose at a rate which is faster as the two activities Cx and C1 or the three activities above are present.

This rate of breakdown of the regenerated cellulose thread is also a function of the enzyme concentration used during the treatment of the thread in order to fix the enzymes on it.

This rate of decomposition also depends on the choice of the enzyme and its activity as a function of the pH of the medium.

Thus, by the selection of the cellulase as a function of its activities, particularly its activities related to the pH, and by the enzyme concentration used for the adsorption of the enzymes onto the thread, one can thus prepare resorbable threads whose resorption time can be modulated.

What is more, the same suture thread could be used in different applications, depending on the implant site and its pH.

The invention also deals with a method for fabrication of the resorbable material, in particular, the resorbable suture thread laden with cellulase.

This method consists in fabricating threads of regenerated cellulose by using the rayon process, comprising the sequence of the following operations:

- \* one prepares alkaline cellulose from wood pulp by the action of carbon disulfide on the alkaline cellulose one obtains cellulose xanthane,

- \* the xanthane is dissolved by soda to obtain the rayon solution,

- \* the solution is spun by passing through spinnerets submerged in a bath of a solution of soda and sulfuric acid,

- \* the resulting threads are then subjected to a desulfuration treatment by action of chemical solutions such as sodium sulfide, sodium sulfite, sodium carbonate, or trisodium phosphate,

- \* the threads are then washed.

The desulfuration treatment and the washing can advantageously alternate in order to improve the efficiency of the sodium elimination.

The regenerated cellulose threads are then treated by means of an enzyme composition in order to adsorb said enzymes onto the threads under such conditions that no activation of the enzyme system occurs, so as not to alter the mechanical properties of the cellulose threads prior to use. It is only after being implanted in the human or animal body that the temperature and the pH will activate the enzymes, which will then break down the thread according to the desired process.

The adsorption of the enzymes onto the thread of regenerated cellulose is influenced by various parameters, in particular: the enzyme concentration of the treatment solution, the thread/enzyme contact time, the pH, the composition of the medium, the temperature, the physical properties of the enzyme, the free surface of the thread.

Thus, the more the enzyme concentration increases, the greater the quantity of enzymes adsorbed; this quantity corresponds to around 20% of the enzymes contained in the enzyme solution, while the limit is the saturation of the substrate.

Adsorption is a relatively rapid phenomenon: in most instances, the majority of the enzymes are adsorbed after a few minutes of contact.

The pH zone corresponding to an effective and maximum adsorption depends on the nature of the enzyme and also any charges which may be present on the substrate.

In general, the adsorption is a maximum in the vicinity of the isoelectric point of the enzyme. This adsorption further depends on the composition of the medium and, for example, the adding of compounds which lessen the solubility of the enzyme in the aqueous phase will encourage its adsorption.

A raising of the temperature translates into two phenomena which will influence the adsorption of the enzyme: an increase in the diffusion which results in a higher rate of adsorption, and a partial unfolding of the dimensional structure of the enzyme molecule: this change in configuration favors the establishing of enzyme/substrate interactions.

After adsorption of the enzymes onto the threads of regenerated cellulose, the threads laden with enzymes are dried, preferably by lyophilization, so as not to degrade the activities of the enzymes.

The dried threads are then sterilized advantageously by subjecting them to a gamma ray exposure.

In order for the thread of the invention to be resorbable, the enzymes must remain fixed onto the thread and they must preserve their activities prior to being implanted.

It has been noted that the maintenance of the enzymes on the thread depends on the conditions of adsorption and that, for the same enzyme, this maintenance depends on the pH and the temperature of the adsorption medium.

In fact, for each type of enzyme there are optimal conditions of adsorption allowing for the adsorbing of a greater quantity of stable enzymes.

Thus, in the case of using an enzyme preparation of cellulase containing around 30 to 40 weight % of endoglucanases, 50 to 60 wt. % of exoglucanases, and 1 wt. % of  $\beta$ -glucosides, the conditions for a good

adsorption are a temperature between 0 and 10 degrees C and a pH between 4 and 6, with optimal adsorption occurring at a temperature of around 4 degrees C and a pH of 5.

The dimensions of the suture thread according to the invention can be very variable: in particular, the diameter can be between 20  $\mu\text{m}$  and 100  $\mu\text{m}$ , depending on the application contemplated.

The resorbable surgical material according to the invention can be in the form of a monofil or, as a variant, in the form of a thread formed from several braided monofils. The material can also be in a different form obtained from tangled or woven threads to produce a compress, for example.

The resorbable material according to the invention can moreover have a particular coloration, the purpose being to facilitate the use of this thread during clinical operations thanks to the fact that it is easy to locate. However, one of the particularities of this coloration is that it should not leave behind any traces when the thread is totally resorbed.

By coloration is meant the use of a colorant approved by the FDA (Food Drug Association [sic!]), that is, the colorant D & C violet CI 60725, marketed by the BAYER/DUPONT company. The maximum dose of this colorant, for example, is at most 0.5 wt. % of the thread on which it will be fixed.

Other advantages and characteristics of the invention will appear in the following description of examples of the fabrication of the resorbable threads according to the invention.

#### Example 1

By the rayon process for production of regenerated cellulose, one prepares a solution of rayon which is spun to obtain a cellulose thread of 42  $\mu\text{m}$  diameter.

The thread obtained is treated by means of an enzyme preparation by being placed in an aqueous solution of an enzyme preparation based on cellulose, containing around 30 to 40 weight % of endoglucanases, 50 to 60 wt. % of exoglucanases, and 1 wt. % of  $\beta$ -glucosides. This enzyme preparation is marketed by BIOPULP INTERNATIONAL under the name LIFTASE A40<sup>R</sup>. The concentration of the enzyme preparation in the aqueous treatment solution is  $2.10^{-3}$  liters per liter of solution.

The adsorption occurs at a temperature of 4 degrees C and a pH of 5, this pH being adjusted by adding sulfuric acid.

The thread of regenerated cellulose is placed in the aqueous enzyme solution at a rate of 10 g of thread per liter of aqueous enzyme solution. The thread/solution contact time is set at 30 minutes, so as to ensure a maximum adsorption.

The thread is then removed from the aqueous enzyme solution and dried by lyophilization.

The thread is then sterilized by exposure to gamma rays, being subjected to a dose of 25 Mrad. The thread can be kept at a temperature below 10 degrees C without any degradation being observed.

#### Examples 2 and 3

One proceeds as in example 1, except that the starting threads, before the enzyme treatment, have a diameter of 78  $\mu\text{m}$  and 98  $\mu\text{m}$ , respectively.

#### Examples 4 to 6

One proceeds as in examples 1, 2, and 3, except that the adsorption of enzymes is done by dipping the threads in an aqueous solution having a concentration of enzyme preparation of  $5.10^{-3}$  liters of Liftase A40 per liter of solution.

#### Examples 7 to 9

One proceeds as in examples 1 to 3, except that the enzyme adsorption is done by dipping the threads in an aqueous solution having a concentration of enzyme preparation of  $10^{-2}$  liters of Liftase A40 per liter of solution.

#### Example 10 to 12

One proceeds as in examples 7 to 9, except that the concentration is  $4.10^{-2}$  liters of enzymes per liter of solution.

The threads prepared according to examples 1 to 12 are subjected to mechanical strength testing according to the protocol as described in the monograph of the European Commission on Pharmacopoeia with regard to resorbable synthetic threads.

Strength tests on the knots are done under the following conditions:

- \* equipment used: ADAMEL LHOMARGY traction machine, model DY 15,
- \* speed of the moving arm: 250 mm/min
- \* initial length of the threads between 12 and 20 cm
- \* a single knot is made at the middle of each thread

The parameters measured are the stress at rupture ( $\sigma_r$ ) and the elongation at rupture ( $\epsilon_r$ ).

The values of  $\sigma_r$  and  $\epsilon_r$  obtained for the threads according to the examples after enzyme treatment are identical to those obtained before said treatment. The values of  $\sigma_r$  are respectively 15.4 GPa, 5.6 GPa and 5.0 GPa for the threads of 42  $\mu\text{m}$ , 78  $\mu\text{m}$ , and 98  $\mu\text{m}$  in diameter, and the values of  $\epsilon_r$  are respectively 14 %, 30 %, and 30.5 %. For comparison, the values of  $\sigma_r$  and  $\epsilon_r$  for a Vicryl R thread are 7.65 GPa and 14 %.

The treatment of the threads with the enzymes under the conditions of the invention therefore does not affect their mechanical properties.

To measure the kinetics of degradation of the threads under conditions similar to those found in the body, threads obtained according to examples 1 to 12 were placed in a buffer solution at pH 4.5, formed from 650 ml of acetic acid 0.1 N and 350 ml of sodium acetate 0.1 N per liter of solution.

Other threads obtained per examples 1 to 12 were placed in a buffer solution at pH 7.4, formed from 393 ml of sodium hydroxide 0.1 N and 250 ml of monopotassium phosphate 0.2 N.

These two buffer solutions present conditions close to those of the body: the muscles have a pH of 4.5 and blood a pH of 7.4.

One determines the degradation of the threads by titration of the reducing sugars with DNS (3,5-dinitrosalicylic acid). Hydrolysis of the cellulose produces reducing sugars (cellobiose and glucose), and the appearance of these sugars in the course of the degradation reflects the activity of the enzymes.

Another test for degradation of the thread is carried out by tracking the change in the mechanical properties of the thread.

The threads are placed in the buffer solutions at a rate of 10 g of thread per liter of solution.

After 6 days in the buffer solution at pH 4.5, the glucose content per liter of solution is around 5 g/l, which shows a degradation of half of the threads for the threads of examples 10 to 12, around 1.2 g/l for the threads of examples 7 to 9, around 0.6 g/l for the threads of examples 4 to 6 and around 0.3 g/l for the threads of examples 1 to 3.

After 6 days in the buffer solution at pH 7.4, the glucose content per liter of solution is around 1.6 g/l for the threads of examples 10 to 12, around 0.5 g/l for the threads of examples 7 to 9, around 0.2 g/l for the threads of examples 4 to 6 and around 0.1 g/l for the threads of examples 1 to 3.

One may note sizeable differences for the degradation according to whether the threads are placed at pH 4.5 or pH 7.4. These differences are tied to the conditions of action of the enzymes used, which are more active at pH 4.5 than at pH 7.4.

By random sampling over the course of time for the threads of the invention, placed in the two buffer solutions, one can measure the loss of mechanical properties of these threads.

At pH 4.5, the loss of strength is very rapid. For the threads according to examples 10 to 12, the strength at the end of 4 days is only 10 % of the initial strength. For the threads of examples 1 to 3, the strength at the end of 4 days is still 50 %.

At pH 7.4, the loss of strength is much more slow. Thus, the threads according to examples 10 to 12 at the end of 20 days show a strength corresponding to 80 % of the initial strength. The threads according to examples 1 to 3 at the end of this period still show a strength more than 90 % of the initial strength.

These examples show that the invention makes it possible to obtain resorbable threads having periods of resorption which can be very variable according to the application for which they are intended, while still being of the same kind.

## CLAIMS

1. Resorbable surgical material, characterized in that it is formed from at least one thread of regenerated cellulose on which are fixed enzymes able to degrade it under the conditions inside the human or animal body.

2. Resorbable surgical material per claim 1, characterized in that the enzymes are cellulases.

3. Resorbable surgical material per one of claim 1 and 2, characterized in that it has a particular coloration which will not leave behind traces in the surrounding medium when the thread has been resorbed.

4. Resorbable surgical material per one of claim 1 and 3, characterized in that it has a resorption period which can be modulated according to the type and quantity of enzymes initially attached to it.

5. Application of the surgical material per one of claim 1 to 4, as a suture thread.

6. Method of fabrication of a resorbable surgical material based on at least one thread of cellulose, characterized in that one prepares a thread of regenerated cellulose by the rayon process, one subjects the thread to a treatment by means of an enzyme composition for an adsorption of the enzymes onto the thread, one dries the thread and sterilizes it.

7. Method per claim 6, characterized in that the adsorption is done at a temperature between 0 and 10 degrees C and a pH between 4 and 6.

8. Method per one of claims 6 to 7, characterized in that one dries the thread by lyophilization.

9. Method per one of claims 6 to 8, characterized in that one sterilizes the thread by a gamma ray treatment.

⑬ RÉPUBLIQUE FRANÇAISE  
INSTITUT NATIONAL  
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE  
PARIS

⑪ N° de publication : **2 693 108**  
(à n'utiliser que pour les  
commandes de reproduction)

⑫ N° d'enregistrement national : **92 06954**

⑤① Int Cl<sup>8</sup> : A 61 L 17/00

⑫ **DEMANDE DE BREVET D'INVENTION**

**A1**

⑫② Date de dépôt : 10.06.92.

⑫③ Priorité :

⑦① Demandeur(s) : **HEXABIO (S.A.) — FR.**

⑦② Inventeur(s) : **Poustis Joël.**

⑫④ Date de la mise à disposition du public de la  
demande : 07.01.94 Bulletin 94/01.

⑫⑤ Liste des documents cités dans le rapport de  
recherche préliminaire : *Ce dernier n'a pas été  
établi à la date de publication de la demande.*

⑫⑥ Références à d'autres documents nationaux  
apparentés :

⑦③ Titulaire(s) :

⑦④ Mandataire : **Muller René.**

⑤④ Matériau chirurgical résorbable en particulier fil de suture résorbable.

⑤⑦ L'invention concerne un matériau chirurgical résorba-  
ble notamment un fil de suture, formé d'au moins un fil de  
cellulose régénérée sur lequel sont fixées des enzymes su-  
ceptibles de le dégrader dans les conditions de milieu du  
corps humain ou animal.

**FR 2 693 108 - A1**



## MATERIAU CHIRURGICAL RESORBABLE EN PARTICULIER FIL DE SUTURE RESORBABLE

La présente invention concerne un matériau chirurgical résorbable, notamment un nouveau fil de suture résorbable.

Les fils de suture résorbables sont utilisés couramment en médecine et en chirurgie, en particulier lorsque l'ablation des fils est impossible sans ouverture et que la persistance de fils non résorbables pourrait entraîner des troubles.

Les fils résorbables doivent présenter une bonne résistance mécanique à l'état sec et à l'état humide, une bonne élasticité et un ensemble d'autres propriétés et notamment une concordance des durées de destruction biologique avec les durées de cicatrisation, une absence de réactions allergiques et inflammatoires lors de la suture et dans la période de dissolution complète du matériau de suture. Le choix du fil pour le chirurgien est donc fonction de la suture à réaliser et du lieu de l'implantation.

En tant que fils de suture, on utilise encore actuellement du catgut qui est constitué de fibres de collagène obtenues par câblage de lanières des sous-muqueuses ou musculaires d'animaux. La durée de résorption du catgut est plus ou moins longue selon le traitement chimique que l'on fait subir au fil. Cette durée peut ainsi passer de 20 jours à 60 jours pour un traitement utilisant un procédé de tannage aux sels de chrome, la résorption du catgut se faisant dans le corps humain par protéolyse. Un des inconvénients de ce fil de suture est qu'il peut exercer un effet allergisant provoquant une réaction inflammatoire dans les tissus biologiques, ce qui conduit à la formation d'une cicatrice épaisse.

On préfère utiliser aujourd'hui des fils synthétiques, notamment des fils tressés à base d'acide polyglycolique et/ou d'acide polylactique, ces deux composants étant des métabolites physiologiques et leurs fils étant généralement bien tolérés par l'organisme. La dégradation des fils se fait suivant le mécanisme de l'hydrolyse par les liquides physiologiques. Du point de vue mécanique, ces fils conservent environ 60 % de leur résistance initiale après 15 jours d'implantation. La perte totale de la résistance se fait après un mois d'implantation environ.

Afin d'accélérer le processus de résorption, les fils à base de polymères ou copolymères glycoliques et lactiques peuvent être traités notamment par un rayonnement ionisant qui provoque une consolidation de leur structure.

On connaît aussi le monofil ou monofilament résorbable de synthèse, à base de polyester polydioxanone, dont la surface très lisse permet une bonne fluidité à travers



les tissus. Cependant sa rigidité leur confère une maniabilité inférieure à celle des fils tressés. La résorption par hydrolyse est plus lente que pour les fils tressés à base d'acide polylactique et polyglucolique.

5 On connaît encore d'autres monofilaments synthétiques résorbables, notamment ceux à base d'un acide polyglycolique modifié ou polygluconate.

Ces fils synthétiques qui présentent des qualités techniques et mécaniques supérieures à celles du catgut, telles que solidité à la rupture, souplesse, tenue de noeud, régularité, peuvent encore cependant provoquer des réactions inflammatoires. En outre, leurs produits de décomposition peuvent être difficilement éliminés par les  
10 cellules, le sang et les reins.

Un autre inconvénient de ces fils synthétiques et qu'à chaque famille de types de fils correspond généralement une durée de résorption donnée, c'est à dire que pour chaque intervention différente il faut utiliser un fil de comportement et de manipulation différents.

15 L'invention obvie aux inconvénients cités. Elle propose un nouveau matériau résorbable notamment sous forme d'au moins un fil résorbable à base de cellulose régénérée.

Le matériau résorbable selon l'invention, notamment en forme de fil est un matériau à base de cellulose régénérée obtenue selon le procédé viscose ou tout autre  
20 procédé de synthèse de la cellulose régénérée, matériau sur lequel sont fixées des enzymes susceptibles de le dégrader dans des conditions de milieu et de durée déterminées, en particulier dans les conditions de milieu du corps humain ou animal.

Sous un des aspects de l'invention, le fil à base de cellulose régénérée, est un fil sur lequel est fixé des cellulases. Ces cellulases peuvent être de plusieurs types  
25 selon leurs activités enzymatiques : les endoglucanases (activité  $C_x$  (CMC), les exoglucanases (activité  $C_1$  (AVICEL) ), les  $\beta$ -glucosidases. Ces enzymes sont susceptibles d'hydrolyser la cellulose avec une vitesse d'autant plus grande que les deux activités  $C_x$  et  $C_1$  ou les trois activités ci-dessus sont présentes.

Cette vitesse de dégradation du fil de cellulose régénérée est aussi fonction de  
30 la concentration enzymatique utilisée lors du traitement du fil afin d'y fixer les enzymes.

Cette vitesse de dégradation dépend aussi du choix de l'enzyme et de son activité en fonction du pH du milieu.

Ainsi par la sélection de la cellulase en fonction de ses activités, notamment  
35 selon ses activités liées au pH, et par la concentration enzymatique utilisée pour l'adsorption des enzymes sur le fil, on peut aussi préparer des fils résorbables dont la durée de résorption est modulable.

En outre un même fil de suture pourra être utilisé dans des applications différentes selon le lieu d'implantation et son pH.

L'invention concerne également un procédé de fabrication du matériau résorbable et en particulier du fil de suture résorbable porteur de cellulase.

5 Ce procédé consiste à fabriquer des fils de cellulose régénérée par utilisation du procédé viscose comprenant la suite des opérations suivantes :

- on prépare de l'alcali-cellulose à partir de pâtes de bois, par l'action du sulfure de carbone sur l'alcali-cellulose on obtient du xanthate de cellulose,
- 10 • on dilue le xanthate par de la soude pour obtenir la solution de viscose,
- la solution est filée par passage dans des filières plongées dans un bain d'une solution de soude et d'acide sulfurique,
- les fils obtenus sont ensuite soumis à un traitement de désulfuration par action de solutions chimiques telles que le sulfure de sodium, le sulfite de sodium, le carbonate de sodium ou le phosphate trisodique,
- 15 • les fils sont ensuite lavés.

Le traitement de désulfuration et les lavages peuvent avantageusement être alternés afin d'améliorer l'efficacité de l'élimination du soufre.

20 Les fils de cellulose régénérée sont ensuite traités à l'aide d'une composition enzymatique en vue d'une adsorption desdites enzymes par les fils et dans des conditions telles qu'il n'y ait pas activation du système enzymatique afin de ne pas altérer les propriétés mécaniques des fils de cellulose avant usage. Ce n'est qu'après l'implantation dans le milieu physiologique humain ou animal que la température et le pH vont activer les enzymes qui vont alors dégrader le fil selon le processus désiré.

25 L'adsorption des enzymes par le fil de cellulose régénérée est influencée par différents paramètres qui sont notamment : la concentration en enzymes de la solution de traitement, le temps de contact fil-enzyme, le pH, la composition du milieu, la température, les propriétés physiques de l'enzyme, la surface libre du fil.

30 Ainsi plus la concentration en enzyme augmente, plus la quantité d'enzymes adsorbées est importante, cette quantité correspond à environ 20 % des enzymes contenues dans la solution enzymatique, la limite étant toutefois la saturation du substrat.

L'adsorption est un phénomène relativement rapide : dans la plupart des cas, la majorité des enzymes est adsorbée après quelques minutes de contact.

35 La zone de pH correspondant à une adsorption efficace et maximale dépend de la nature de l'enzyme et aussi des éventuelles charges présentées par le support.

En général l'adsorption est maximale au voisinage du point isoélectrique de l'enzyme. Cette adsorption dépend encore de la composition du milieu et par

exemple, l'addition de composés diminuant la solubilité de l'enzyme dans la phase aqueuse favorise son adsorption.

5 Un accroissement de la température se traduit par deux phénomènes qui vont influencer l'adsorption de l'enzyme : une augmentation de la diffusion qui entraîne une vitesse d'adsorption plus grande, un déploiement partiel de la structure dimensionnelle de la molécule enzymatique : ce changement de configuration favorise l'établissement des interactions enzymes support :

10 Après adsorption des enzymes par les fils de cellulose régénérée, les fils porteurs d'enzymes sont séchés, de préférence par lyophilisation afin de ne pas dégrader les activités des enzymes.

Les fils séchés sont ensuite stérilisés de manière avantageuse en étant soumis à une irradiation par rayons  $\gamma$ .

Pour que le fil selon l'invention soit résorbable, il faut qu'avant son implantation les enzymes restent fixées sur le fil et qu'elles conservent leurs activités.

15 On a observé selon l'invention que le maintien des enzymes sur le fil dépendait des conditions d'adsorption et que pour une même enzyme, ce maintien dépend du pH et de la température du milieu de l'adsorption.

En fait, pour chaque type d'enzyme, il existe des conditions d'adsorption optimales qui permettent d'adsorber la plus grande quantité d'enzymes stables.

20 Ainsi dans le cas de l'utilisation d'une préparation enzymatique de cellulase contenant environ 30 à 40 % en poids d'endoglucanases, 50 à 60 % en poids d'exoglucanases et 1 % en poids de  $\beta$ -glucosidases, les conditions d'une bonne adsorption sont une température comprise entre 0 et 10°C et un pH compris entre 4 et 6, l'adsorption optimale s'opérant à une température de 4°C environ et à un pH de 5.

25 Les dimensions du fil de suture selon l'invention peuvent être très variables : le diamètre pouvant être compris notamment entre 20  $\mu\text{m}$  et 100  $\mu\text{m}$ , selon l'application envisagée.

30 Le matériau chirurgical résorbable selon l'invention peut se présenter sous la forme d'un monofil ou en variante sous la forme d'un fil formé de plusieurs monofils tressés. Le matériau peut aussi se présenter sous une forme différente obtenue à partir de fils enchevêtrés ou tissés pour constituer une compresse par exemple.

35 Le matériau résorbable selon l'invention peut en outre posséder une coloration particulière qui a pour objet de faciliter l'usage de ce fil lors des interventions cliniques par le fait qu'il est plus facilement repérable. Cependant, une des particularités de cette coloration est qu'elle ne doit pas laisser de traces lorsque le fil est totalement résorbé.

On entend par coloration, l'utilisation d'un colorant agréé par la FDA (Food Drug Association), c'est à dire le colorant D & C violet CI 60725 commercialisé par la Société BAYER/DUPONT. La dose maximale de ce colorant par exemple est au plus de 0,5 % en poids du fil sur lequel il sera fixé.

5 D'autres avantages et caractéristiques de l'invention apparaîtront dans la description suivante, d'exemples de fabrication des fils résorbables selon l'invention.

#### Exemple 1

10 Par le procédé viscosé de fabrication de la cellulose régénérée, on prépare une solution de viscosé que l'on file pour obtenir un fil de cellulose de 42  $\mu\text{m}$  de diamètre.

Le fil obtenu est traité à l'aide d'une préparation enzymatique en étant placé dans une solution aqueuse d'une préparation enzymatique à base de cellulases contenant environ 30 à 40 % en poids d'endoglucanases, 50 à 60 % en poids d'exoglucanases et 1 % en poids de  $\beta$ -glucosidases. Cette préparation enzymatique est commercialisée par BIOPULP INTERNATIONAL sous l'appellation LIFTASE A40 R. La concentration en préparation enzymatique de la solution aqueuse de traitement est de  $2 \cdot 10^{-3}$  litre par litre de solution.

20 L'adsorption s'effectue à une température de 4°C et à un pH de 5, ce pH étant ajusté par addition d'acide sulfurique.

Le fil de cellulose régénérée est placé dans la solution aqueuse d'enzyme à raison de 10 g de fil par litre de solution aqueuse d'enzymes. Le temps de contact fil/solution est fixé à 30 minutes de manière à s'assurer d'une adsorption maximale.

Le fil est ensuite retiré de la solution aqueuse enzymatique et il est séché par lyophilisation.

25 Le fil est ensuite stérilisé par irradiation aux rayons  $\gamma$  en étant soumis à une dose de 25 Mrad. Le fil peut être conservé à une température inférieure à 10°C sans que l'on observe de dégradation.

#### Exemples 2 et 3

30 On opère comme dans l'exemple 1 sauf que les fils de départ, avant traitement par les enzymes, présentent un diamètre de 78  $\mu\text{m}$  et 98  $\mu\text{m}$  respectivement.

#### Exemples 4 à 6

35 On opère comme dans les exemples 1, 2 et 3 sauf qu'on effectue l'adsorption des enzymes par immersion des fils dans une solution aqueuse présentant une concentration en préparation enzymatique de  $5 \cdot 10^{-3}$  litre de Liftase A40 par litre de solution.

#### Exemples 7 à 9

On opère comme dans les exemples 1 à 3, sauf qu'on effectue l'adsorption des enzymes par immersion des fils dans une solution aqueuse présentant une

concentration en préparation enzymatique de  $10^{-2}$  litre de Liftase A40 par litre de solution.

#### Exemple 10 à 12

On opère comme dans les exemples 7 à 9, sauf que la concentration est de  $4.10^{-2}$  litre d'enzymes par litre de solution.

Les fils préparés selon les exemples 1 à 12 sont soumis à des essais de résistance mécanique suivant le protocole décrit dans la monographie de la Commission Européenne de Pharmacopée relative aux fils résorbables synthétiques.

Des essais de résistance aux noeuds sont effectués dans les conditions suivantes :

- matériel utilisé : machine à traction ADAMEL LHOMARGY, modèle DY 15,

- vitesse de la traverse mobile : 250 mm/min

- longueur initiale des fils comprise entre 12 et 20 cm

- un noeud simple est effectué au milieu de chaque fil

Les paramètres mesurés sont la contrainte à la rupture ( $\sigma_r$ ) et l'allongement à la rupture ( $\varepsilon_r$ ) .

Les valeurs  $\sigma_r$  et  $\varepsilon_r$  obtenues pour les fils selon les exemples après traitement enzymatique sont identiques à celles obtenues avant ledit traitement. Les valeurs  $\sigma_r$  sont respectivement de 15,4 GPa, 5,6 GPa et 5,0 GPa pour les fils de 42  $\mu$ m, 78  $\mu$ m et 98  $\mu$ m de diamètre, et les valeurs  $\varepsilon_r$  sont respectivement de 14 %, 30 % et 30,5 %. A titre de comparaison, les valeurs  $\sigma_r$  et  $\varepsilon_r$  pour un fil Vicryl<sup>R</sup> sont de 7,65 GPa et 14 %.

Le traitement des fils par les enzymes dans les conditions de l'invention, n'affecte donc pas leurs propriétés mécaniques.

Pour mesurer la cinétique de dégradation des fils dans des conditions proches de celles trouvées dans l'organisme, des fils obtenus selon les exemples 1 à 12 sont placés dans une solution tampon à pH 4,5, formée de 650 ml d'acide acétique 0,1 N et 350 ml d'acétate de sodium 0,1 N par litre de solution.

D'autres fils obtenus selon les exemples 1 à 12 sont placés dans une solution tampon à pH 7,4 formée de 393 ml d'hydroxyde de sodium 0,1 N et 250 ml de phosphate monopotassique 0,2 N.

Ces deux solutions tampons présentent des conditions proches de celles de l'organisme : les muscles possédant un pH de 4,5 et le sang un pH de 7,4.

On détermine la dégradation des fils par le dosage des sucres réducteurs par le DNS (acide 3,5-dinitrosalicylique). L'hydrolyse de la cellulose produisant des sucres réducteurs (cellobiose et glucose), l'apparition de ces sucres au cours de la dégradation reflète l'activité des enzymes.

Un autre test de dégradation du fil s'effectue par le suivi de l'évolution des propriétés mécaniques du fil.

Les fils sont placés dans les solutions tampon à raison de 10 g de fil par litre de solution.

5       Après 6 jours dans la solution tampon à pH 4,5, la teneur en glucose par litre de solution est d'environ 5 g/l, ce qui montre une dégradation de la moitié des fils pour les fils des exemples 10 à 12, d'environ 1,2 g/l pour les fils des exemples 7 à 9, d'environ 0,6 g/l pour les fils des exemples 4 à 6 et d'environ 0,3 g/l pour les fils des  
10       exemples 1 à 3.

Après 6 jours dans la solution tampon à pH 7,4, la teneur en glucose par litre de solution est d'environ 1,6 g/l pour les fils des exemples 10 à 12, d'environ 0,5 g/l pour les fils des exemples 7 à 9, d'environ 0,2 g/l pour les fils des exemples 4 à 6 et d'environ 0,1 g/l pour les fils des exemples 1 à 3.

15       On peut noter des différences importantes pour les dégradations selon qu'on se place à pH 4,5 ou à pH 7,4. Ces différences sont liées aux conditions d'action des enzymes utilisées qui sont plus actives à pH 4,5 qu'à pH 7,4.

Par prélèvement au cours du temps de fils selon l'invention, placés dans deux solutions tampon, on peut mesurer la perte des propriétés mécaniques de ces fils.

20       A pH 4,5 la perte de résistance est très rapide. Pour les fils selon les exemples 10 à 12, la résistance au bout de 4 jours n'est plus que de 10 % de la résistance initiale. Pour les fils selon les exemples 1 à 3 la résistance au bout de 4 jours est encore de 50 %.

25       A pH 7,4 la perte de résistance est beaucoup plus lente. Ainsi les fils selon les exemples 10 à 12 présentent au bout de 20 jours une résistance correspondant à 80 % de la résistance initiale. Les fils selon les exemples 1 à 3 présentent encore au bout de cette durée une résistance supérieure à 90 % de la résistance initiale.

30       Ces exemples montrent que l'invention permet d'obtenir des fils résorbables présentant des durées de résorption pouvant être très variées selon l'application à laquelle ils sont destinés, tout en étant de même nature.

5

## REVENDICATIONS

1. Matériau chirurgical résorbable, caractérisé en ce qu'il est formé d'au moins un fil de cellule régénérée sur lequel sont fixées des enzymes susceptibles de le dégrader dans les conditions de milieu du corps humain ou animal.

10 2. Matériau chirurgical résorbable selon la revendication 1, caractérisé en ce que les enzymes sont des cellulases.

3. Matériau chirurgical résorbable selon une des revendications 1 et 2, caractérisé en ce qu'il possède une  
15 coloration particulière qui ne laissera pas de traces dans le milieu environnant lorsque la résorbabilité du fil sera réalisé.

4. Matériau chirurgical résorbable selon une des revendications 1 et 3, caractérisé en ce qu'il présente une  
20 durée de résorption modulable selon le type et la quantité d'enzymes initialement fixés.

5. Application du matériau chirurgical selon une des revendications 1 à 4, en tant que fil de suture.

6. Procédé de fabrication d'un matériau chirurgical  
25 résorbable à base d'au moins un fil de cellulose, caractérisé en ce qu'on prépare un fil de cellulose régénérée par le procédé viscosé, on soumet le fil à un traitement à l'aide d'une composition enzymatique en vue d'une adsorption des enzymes par le fil, on sèche le fil et  
30 on le stérilise.

7. Procédé selon la revendication 6, caractérisé en ce que l'adsorption est réalisée à une température comprise entre 0 et 10°C et à un pH compris entre 4 et 6.

8. Procédé selon une des revendications 6 à 7,  
35 caractérisé en ce qu'on sèche le fil par lyophilisation.

9. Procédé selon une des revendications 6 à 8, caractérisé en ce qu'on stérilise le fil par un traitement aux rayons  $\gamma$ .